PIBB 生物化学与生物物理进展
Progress in Biochemistry and Biophysics
2015, 42(3): 211~219
www.pibb.ac.cn

核酸(脱)甲基化与内源甲醛及认知损伤 *

苏 涛[1, 2] 宋 丹[3] 李 婷[1, 2] 王星华[4] 赫荣乔[1)**]

([1)] 中国科学院生物物理研究所，北京 100101；[2)] 中国科学院大学，北京 100049；
[3)] 香港中文大学深圳研究院，深圳 518057；[4)] 北京中医药大学，北京 100029)

摘要 核酸(DNA 和 RNA)甲基化 / 脱甲基是表观遗传调控的重要机制．甲醛参与 DNA、RNA 的甲基化 / 脱甲基过程，从而影响表观遗传的调节，包括学习记忆等认知功能．然而，甲醛代谢失调将影响核酸的甲基化与脱甲基，使动物的学习记忆能力下降，造成认知损伤．对北京地区 604 名老人(≥60 岁)的调查显示，内源甲醛含量与被试受教育的年限相关，受教育程度越高，内源甲醛含量越低，反之亦然．这些结果表明，内源甲醛在人类学习记忆中扮演重要的角色，“活到老，学到老”可以延缓甲醛代谢失调引起的老年认知损伤．因此，研究内源甲醛代谢与核酸甲基化修饰之间的关系，对探索记忆储存及认知损伤等表观遗传学相关疾病的发生发展机制，具有一定的启示．

关键词 DNA 甲基化，RNA 甲基化，脱甲基化，内源甲醛，认知损伤
科学分类号 Q42，R74 **DOI**: 10.16476/j.pibb.2014.0311

核酸 (DNA 和 RNA) 甲基化 / 脱甲基是表观遗传学领域中的重要研究内容，涉及细胞增殖与分化、基因组印记、基因表达与调控等许多方面[1]，如学习记忆等生物学功能及其相关疾病[2]，包括肿瘤的发生等[3]．内源甲醛参与 DNA 和 RNA 甲基化与脱甲基，并且是核酸甲基化修饰过程中不可或缺的小分子化合物[4-5]．

1 DNA 甲基化

在成体细胞中，DNA 甲基化一般发生在 CpG 双核苷酸(CpG dinucleotide)上，有 40%的基因启动子区含 CpG 序列[6]．因此甲基化对这些基因的调控起重要作用．非 CpG 甲基化形式，在胚胎干细胞中较为常见[7-8]．

DNA 甲基化通过 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase，DNMT)，将甲基从 S- 腺苷甲硫氨酸 (S-adenosylmethionine，SAM) 转移到胞嘧啶的 5 位生成 5- 甲基胞嘧啶(5mC)．其中，甲醛是合成 SAM 甲基的供体．机体通过“单碳池”代谢生成 SAM，甲醛作为甲基供体与叶酸结合，生成 5, 10- 亚甲基四氢叶酸，为甲硫氨酸的合成提供甲基，继而参与 DNA[9]或 RNA 甲基化[10]．

目前发现的 DNA 甲基化酶有 3 种：DNMT1、DNMT3a、DNMT3b[11-12]．DNMT1 催化复制后新合成链的甲基化，维持 DNA 的甲基化水平，在胚胎和成体中均有表达，但其不能启动甲基化[13]．而 DNMT3a 和 DNMT3b 主要在胚胎和胚胎干细胞中有较高活性，可以启动 DNA 的甲基化[14]．实验表明，甲醛在脑内含量的升高与降低，可以影响 DNMTs 的活性，从而影响 DNA 甲基化水平[15]．

2 DNA 脱甲基化与甲醛的产生

DNA 甲基化 / 脱甲基均与甲醛分子相关，如上所述，甲醛是 DNA 甲基化过程中的供体，而 DNA 脱甲基，则释放出甲醛分子(图 1)．

* 国家重点基础研究发展计划(973)(2012CB911000)，国家自然科学基金(31270868)资助项目，中国科学院重点部署项目(20140909).
** 通讯联系人.
Tel: 010-64889876, E-mail: herq@sun5.ibp.ac.cn
收稿日期：2014-12-12，接受日期：2014-12-23

(a)

5-methylcytosine (5mC, M) —TET→ HmC

5- 甲基胞嘧啶氧化成 5- 羟甲基胞嘧啶

HmC ↔ ⇌ Cytosine

产生和清除甲醛

(b)

SAM → SAH (METTL3); HCHO ← Fe(Ⅱ) 2OG (FTO ALKBH5)

Fig. 1　Yield of formaldehyde from a potential demethylation pathway for the 5mC of DNA and m6A of RNA

图 1　甲醛的产生与 5-甲基胞嘧啶(DNA)脱甲基及 6-甲基腺嘌呤(RNA)脱甲基的可能途径

(a) 5- 甲基胞嘧啶可以通过酶促反应生成 5-羟甲基胞嘧啶. 5- 羟甲基胞嘧啶脱甲基产生胞嘧啶和甲醛. (b) 在 FTO 和 ALKBH5 的催化下，6- 甲基腺嘌呤脱甲基，生成甲醛[29]. 5mC: 5- 甲基胞嘧啶; HmC: 5- 羟甲基胞嘧啶; Cytosine: 胞嘧啶; SAM: S- 腺苷甲硫氨酸; SAH: S- 腺苷同型半胱氨酸; 2OG: α 酮戊二酸.

DNA 脱甲基化可以分为被动和主动两种方式[16]．被动脱甲基化主要与 DNA 复制相关，半保留复制使 DNA 甲基化水平逐渐降低．这是由于在复制过程中，染色质结构与转录相关的核蛋白复合物，可能干扰 DNMT1 的甲基化活性；当 DNMTs 活性被抑制或浓度过低，将无法维持原有甲基化酶活水平，使得 DNA 甲基化程度降低．如果抑制甲基转移酶活性，可以引起脱氧胞苷、5- 氮杂胞嘧啶脱甲基，产生内源甲醛[17]．伴随机体的老龄化，内源甲醛在体内的含量逐渐升高[2]，而 DNA 甲基化水平却逐渐降低.

DNA 主动脱甲基的方式，包括水解反应直接去除甲基、核苷切除修复(NER)、碱基切除修复(BER)、5mC 脱氨基与 BER 偶联、5mC 氧化脱甲基、延伸复合物蛋白 3 (elongtor complex protein3，ELP3) 催化的 5mC 脱甲基[18-19]．尽管不依赖 DNA 复制，但 DNA 主动脱甲基也与甲醛的产生相关.

从 5mC 的修饰开始，包括脱氨基、甲基脱氢、甲基氧化等过程[20-21]．其中 5mC 氧化可能是 DNA 脱甲基最主要的方式．TET(ten-eleven translocation) 家族包括 TET1、TET2 和 TET3，均属于 α 酮戊二酸和 Fe^{2+} 依赖的双加氧酶，参与 5mC 氧化，产生 5- 羟甲基胞嘧啶 (5hmC) 和 5- 甲酰基胞嘧啶 (5fC)[22]. 5- 甲酰基胞嘧啶可以通过酶促反应脱甲酰基，产生甲醛 (图 1a)，或进一步被氧化成 5- 羧基胞嘧啶 (5caC)，再脱羧基，产生甲酸，但催化的酶系还需要进一步确定．另外，组蛋白脱甲基酶产生甲醛的现象已有报道[23]．甲基被氧化的胞嘧啶也可以在葡萄糖基酶的催化下，通过 BER 途径生成胞嘧啶，从而脱甲基，产生甲醛[22,24].

3 RNA 脱甲基化与甲醛产生

甲醛也是 RNA 甲基化修饰的供体，甲基化主要发生在腺嘌呤第 6 位氮原子上[25]，即 6- 甲基腺嘌呤 (m6A)．与 DNA 和组蛋白甲基化与脱甲基可逆过程一样，m6A 的酶促甲基化为一个动态平衡．脱甲基酶 FTO (fat mass and obesity-associated) 和 ALKBH5 (Homo sapiens alkaB，alkylation repair homolog 3)的基因被敲除后，m6A 甲基化水平会显著升高[26]．FTO 与 ALKBH5 同属于非血红素 Fe(Ⅱ)/α 酮戊二酸依赖的双加氧酶的保守 AlkB 家族[27-28]，催化碱基甲基化氮原子脱甲基，生成琥珀酸、二氧化碳、甲醛 (图 1b)[29]．

FTO 是一种肥胖风险基因，如果 FTO 产生突变，过度活化，将引起 m6A 甲基化水平降低，导致食物摄入和能量代谢异常，从而引起肥胖和糖尿病[30-31]．FTO 活性过高的转基因鼠，具有认知损伤的表现[32]．FTO 活性升高产生过量的甲醛是否与认知损伤相关，尚需进一步研究．ALKBH5 能够在体内外使 m6A 脱甲基，在调控 mRNA 表达水平和 RNA 代谢的同时，产生甲醛分子[33]．

4 甲醛代谢失调与认知损伤

人类，包括微生物、植物、动物每时每刻都在产生和利用甲醛[34]．内源甲醛是机体生理代谢释放的产物，维持在一定的浓度范围[35]．内源甲醛产生的方式有多种途径，但 DNA 和 RNA 脱甲基，是甲醛产生的主要来源之一．这是因为细胞内 DNA、RNA、组蛋白具有较高的含量，甲醛既作为供体分子，参与 DNA、RNA、组蛋白的甲基化，同时也是脱甲基的产物．研究表明，甲醛代谢失调与认知损伤相关，特别是神经退行性疾病引起的老年认知功能下降，与内源甲醛代谢失调相关[15]．

4.1 外源甲醛对认知的损伤

甲醛是一种化学性质极为活泼的毒性分子，当环境中外源甲醛蓄积超过一定浓度时，就会引起中毒和疾病的发生．甲醛作为交联剂，能够使核酸和蛋白质变性聚集和功能丧失[36]；甲醛可以直接损伤细胞，甚至细胞死亡；体外实验证明，低浓度甲醛可以诱导神经 Tau 蛋白错误折叠，形成具有神经细胞毒性的聚集物，造成神经细胞变性死亡．气态暴露或腹腔注射甲醛，小鼠脑内海马结构出现明显损坏，学习记忆能力明显下降[37-38]．Kilburn 等[39]观察到，在解剖和病理实验室长期工作，接触福尔马林(甲醛)的技术人员，在退休后痴呆的发生率，显著高于同龄对照．

4.2 氧化应激与 DNA 甲基化异常

DNA 氧化损伤已被公认是老年认知损伤发生的早期事件．氧化损伤选择性作用于 DNA 的 CpG 序列中氧化电位最低的鸟嘌呤．因此，8- 羟基脱氧鸟苷 (8-hydroxy-2 deoxyguanosine，8-OHdG) 已经作为 DNA 氧化损伤的生物学标志[40]，在老年痴呆病人脑内，β 淀粉样蛋白(Aβ)聚集，使细胞释放过多的活性氧(reactive oxygen species，ROS)，产生大量 8-OHdG．而 8- 羟基鸟苷 DNA 糖基化酶 1 (Ogg1)的生成减少或缺失，使 8-OHdG 的修复减少，从而遗留氧化损伤的 DNA．另一方面，DNA 甲基化异常，还导致 *APP*、*PS1*、*NEP* 等基因表达异常，使 Aβ 产生增加，寡聚体增多，ROS 大量释放．DNA 甲基化异常不仅干扰 DNA 的修复，还导致 DNA 的氧化损伤．

甲醛也可以通过诱发自由基，使 DNA 和蛋白质氧化，从而损伤细胞，如甲醛可以在铁离子介导下，氧化 DNA 产生 8- 羟基脱氧鸟苷 (8-OHdG)[41]．作者未发表的实验结果表明，在培养液中加入甲醛，可以激发 N2a 细胞产生 ROS，从而启动细胞的氧化应激．采用氯化钴($CoCl_2$)诱导细胞处于缺氧状态，可以观察到细胞培养基中的甲醛浓度显著升高，同时具有细胞基因组的甲基化水平的显著降低．

手术可以造成应激．老年人(>65 岁)经历大型手术，发生手术后认知功能障碍(post operative cognitive dementia，POCD)的概率会显著增加．在临床实验中观察到，发生手术后认知功能障碍的老年患者，与同龄对照组相比较，其内源甲醛在手术后一周，依然保持在异常升高的状态[15, 42-43]．这些结果显示，手术后认知障碍与内源甲醛的含量呈正相关，甲醛浓度异常升高会损害神经系统，从而影响认知能力．

4.3 甲醛代谢失调影响 DNA 的(脱)甲基化

研究表明，甲醛浓度异常升高，会伴随大鼠脑内 DNA 脱甲基．腹腔注射 0.5 mmol/L 甲醛，能降低 DNMT1 和 DNMT3a 的表达，抑制 DNMTs 甲基化 DNA 的功能，使其甲基化水平降低，同时伴有大鼠学习记忆障碍[44]．强敏等[45]发现，具有认知功能障碍的快速衰老型 SAMP8 小鼠，在出现空间记忆异常的同时，其脑内甲醛代谢也出现异常．该衰老模型鼠处于较强的氧化应激状态，其 DNA 表

现出明显的损伤[46]. Cerda 和 Weitzman[41]的研究显示，氧化应激产生的 ROS 可以使 DNA 甲基化异常，引起 DNA 损伤. Wang 等[47]分析了 SAMP8 小鼠脑内组蛋白甲基化的位点，其甲基化亦出现异常.

临床检测报道，老年痴呆病人脑内的 DNMT 水平显著性降低[48]. 甲醛除了可以抑制 DNA 甲基化，也是 DNA 脱甲基的产物，而过量甲醛抑制 DNA 甲基化，使甲醛无法通过四氢叶酸途径参与 DNA 甲基化过程，使得甲醛进一步蓄积，导致细胞进入凋亡途径. 另外，随着年龄增长，SAMP8 小鼠脑内降解甲醛酶(aldehyde dehydrogenasae 5，ADH5)的表达量及活性均出现降低. 从而提高甲醛在脑内的含量，增加甲醛的蓄积，可能抑制 DNMTs 的活性，DNA 甲基化出现异常.

4.4 甲醛代谢失调导致 DNA 甲基化异常影响学习记忆

DNA 甲基化 / 脱甲基是神经活动的重要分子基础. 虽然尚未证实 DNA 脱甲基是否与遗忘有关，但已有实验显示，DNA 甲基化是记忆形成的关键步骤之一. 甲醛是 DNA 甲基化过程中不可或缺的分子，脑内甲醛含量的变化，可以直接影响 DNA 甲基化或脱甲基，从而影响哺乳动物的学习记忆. 一定量的甲醛能刺激神经细胞形成长时程记忆增强 (LTP)[2]. 甲醛可以通过影响 DNA 甲基化与脱甲基，影响动物记忆的形成. 醛类脱氢酶功能增强(knock-in)转基因小鼠和果蝇[49-50]，表现出空间学习迟缓. 与正常对照相比，这些转基因动物需要反复多次训练，才能够形成记忆. 另一方面，如果敲除醛类脱氢酶(ADH3)，动物也表现出学习能力的障碍[51]. 这些结果显示，脑内甲醛含量需维持在一个动态平衡状态，其含量过高或过低，均导致学习记忆能力下降. 需要说明的是，甲醛作为小分子，能自由通过血脑屏障进入脑内[52]. 伴随老龄化，脑内甲醛代谢能力逐渐下降，引起甲醛在中枢神经系统中慢性蓄积，最终形成脑与认知的损伤.

4.5 甲醛认知损伤猴模型的建立

甲醛是甲醇代谢的中间产物. 在神经(胶质)细胞中，甲醇在醇脱氢酶的作用下，转化为甲醛，甲醛在醛脱氢酶的作用下变成甲酸，甲酸最终降解为二氧化碳和水[53]. 为了模拟老年认知损伤的慢性发生过程，杨美凤等[54-55]采用低剂量甲醇喂食(3～5 岁)猕猴，持续 2～3 年，在年轻的猕猴脑内，成功地诱导出了老年斑(Aβ 淀粉样沉积)，异常磷酸化神经 Tau 蛋白在神经细胞内的聚积，这两种人类老年痴呆症脑内典型的病理改变. 不仅如此，猕猴还表现出类似人类老年痴呆的症状，即近期记忆障碍等表现. 采用脑室注射低剂量甲醛，能够更明显地诱导出相关疾病症状和 Aβ 淀粉样沉积及神经 Tau 蛋白异常磷酸化聚积物. 尽管给予小鼠和大鼠体内过量的甲醛，可以导致 DNA 脱甲基[44]，但对于非人灵长类以及人类是否也有类似的现象，需要进一步的实验证实.

4.6 内源甲醛与老年认知损伤呈正相关

生理条件下，内源甲醛的代谢处于动态平衡，但随着机体衰老，甲醛的代谢能力下降，乃至逐渐失调，DNA 和 RNA 甲基化水平降低，内源甲醛的蓄积[42]. 动物脑、血液、尿液中的甲醛随老龄化而升高[49, 51]. 童志前等[2]与北京老年医院合作，采用双盲的方式，研究了 36 位老年人(≥65 岁)和 29 位年轻人(22～28 岁)的内源甲醛，结果显示，尿液中甲醛水平随老龄化而明显增加，并且内源甲醛的含量与认知损伤的严重程度呈正相关，即甲醛与老年痴呆的病情恶化相关[42]. 老年痴呆病人尸检结果表明，海马内甲醛的含量显著高于同龄对照组[42]. 由此，本实验提出了甲醛应激假说[34]，试图阐释内源甲醛是老年痴呆发生发展的危险因素之一(图 2).

随着衰老，特别是高龄老人，内源甲醛的含量升高明显. 另外，手术应激引起甲醛代谢功能失调，也常见于老年病人，手术后内源甲醛升高，造成中枢神经系统损伤，出现手术后认知功能障碍[43]. 作为对照组的年轻人，其内源甲醛浓度在一周内恢复正常，手术后认知功能障碍几乎不发生. 说明甲醛代谢的能力，与手术后认知损伤关系密切.

在甲醛作为药物靶点的研究方面，孙平等[56-57]发现京尼平苷可以降低神经细胞培养液中的甲醛. 肾脏是清除甲醛的主要途径之一，适当饮水可以促进甲醛的排泄，降低内源甲醛水平. 李婷等[58]发现，10 月龄小鼠日饮水量和饮水频率，显著低于 1 月龄的对照，展现出随着衰老小鼠饮水量降低的事实. 饮水减少，不利于体内包括甲醛在内的水溶性代谢产物的清除，甚至造成慢性脱水. 临床饮水实验初步显示，合理饮水可以降低人体内甲醛的含量. 因此，饮水可能通过清除内源甲醛，达到保护包括脑在内的脏器，合理饮水可能成为早期干预老年认知损伤的手段之一.

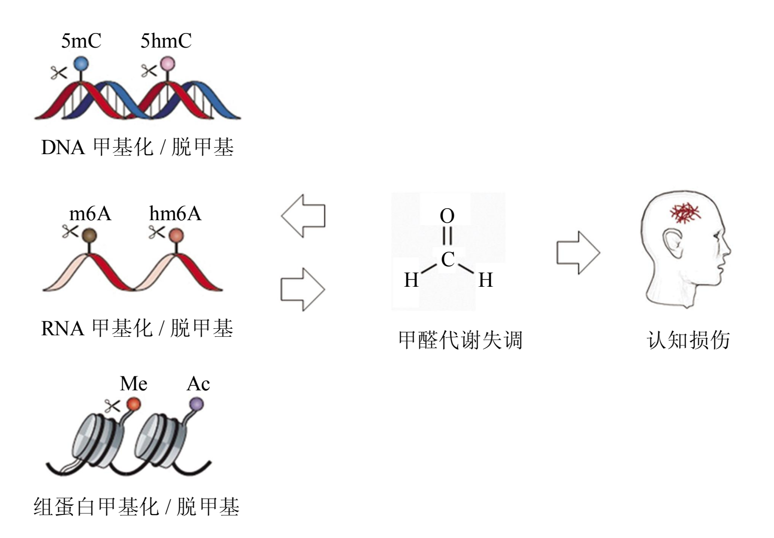


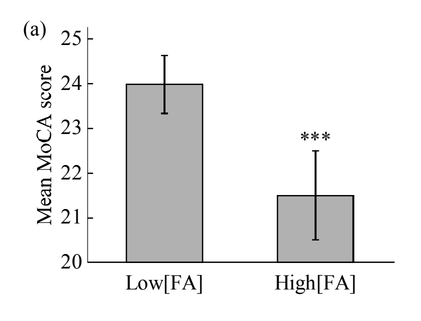
Fig. 2 A putative diagram for and methylation/demethylation of nucleic acid, histone and endogenous formaldehyde as well as cognitive impairment

图 2 核酸、组蛋白甲基化/脱甲基与内源甲醛及认知损伤示意图

DNA、RNA、组蛋白的甲基化 / 脱甲基，调节基因表达和记忆形成等生理过程. 文献报道，DNA 异常甲基化与神经元和认知损伤有关[59-60]. 随着衰老(≥75 岁)，内源甲醛逐渐升高[2]. 甲醛代谢失调将影响 DNA[61]、RNA、组蛋白甲基化，从而引起老年认知损伤[15]. 5mC: 5- 甲基胞嘧啶; 5hmC: 5- 羟甲基胞嘧啶; m6A: 6- 甲基腺嘌呤; hm6A: 6- 羟甲基腺嘌呤; Me: 甲基; Ac: 乙酰基.

4.7 内源甲醛与人类后天受教育程度相关

甲醛是否与人类的认知能力相关？为了进一步阐释甲醛与认知能力的关系，喻婧等[62]对 604 名北京市社区老人，进行了内源甲醛与认知能力之间关系的调研．结果表明，内源甲醛的浓度与认知能力具有明显的相关性．更有意思的是，内源甲醛浓度与被试受教育的年限密切相关，即学习年限越长，体内甲醛含量越低．暗示内源甲醛可以作为人类后天受教育程度的关联因子(图 3).



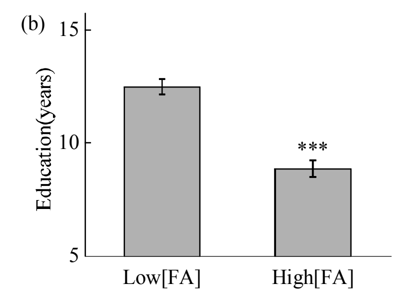


Fig. 3 Changes in concentrations of endogenous formaldehyde related with MoCA scores and education years

图 3 内源甲醛与 MoCA 分数及受教育年限相关

在北京市随机招募 65 岁以上老年志愿者，通过认知功能量表测定 MoCA 分数. 在认知能力检测的同一周内，收集志愿者的尿样. (a) 认知能力检测显示，MoCA 分数与尿甲醛浓度呈负相关, 即低甲醛组(4.67±1.96) μmol/L 的 MoCA 分数显著优于高甲醛组(17.33±3.85) μmol/L. (b) 受教育年数长的其内源甲醛(4.67±1.96) μmol/L 显著低于受教育年限少的实验组(17.33±3.85) μmol/L. 甲醛浓度表示为 $\bar{x} \pm s$. ***$P < 0.001$[62]. 这一结果提示，“活到老，学到老”可能延缓因体内甲醛代谢失调而引起的老年认知损伤.

5 展 望

DNA 甲基化是表观遗传的重要调节机制之一，包括 DNA 脱甲基与重新甲基化[63]，该过程称为 DNA 甲基化重编程．在原始生殖细胞和胚胎早期发育过程中，DNA 发生甲基化重编程．DNA 迅速脱甲基化可发生在全基因组，并且几乎不依赖 DNA 复制．因此，原始生殖细胞成为研究 DNA 甲

基化重编程的理想模型[64]. 在哺乳动物的记忆形成、神经发生等过程中也存在DNA甲基化重编程现象[65].

DNA与RNA甲基化/脱甲基修饰，在维持细胞生长、分化的高度稳定性及其调控过程中具有极为重要作用，一旦出现异常就有可能发生疾病[33]. DNA低甲基化与发育畸形、认知损伤、癌症相关；FTO突变导致的RNA低甲基化，引起肥胖和Ⅱ型糖尿病的产生[66]. 内源甲醛代谢失调被认为是癌症或认知功能损伤发生发展过程中的危险因素[54-55]. 尽管老年认知损伤的发病机制尚不清楚，且十分复杂，涉及因素繁多[67]，如基因变异[68-70]、内外环境[34, 42]、蛋白质异常修饰[71]及在脑内沉积[72-73]、突触间的连接[74]、细胞运输[75]、氧化应激[76-77]、重金属离子[78]、神经干细胞[79]、胶质细胞功能失调[80]、RNA剪接等等[81]，但越来越多的证据表明，内源甲醛代谢失衡在老年认知损伤的发生发展中扮演了重要的角色[82].

在体内，甲胺、组胺等可以通过氨基脲敏感胺氧化酶(SSAO)途径产生甲醛. 细胞线粒体内膜上的细胞色素C-P450可以氧化外源化学物质(如食物、药物、环境污染物)产生甲醛[83-84]. 然而，DNA、RNA、组蛋白的含量在细胞内占有相当的比例，脱甲基是甲醛产生的主要来源. 甲醛通过参与DNA、RNA、组蛋白的甲基化和脱甲基，在表观遗传过程中充当一种重要的调节因子. 研究内源甲醛对核酸的修饰与调控机制，将对阐明表观遗传学领域中所涉及的重要问题，以及探索相关疾病的病理学机制具有一定的参考价值.

致谢 感谢童志前博士在论文撰写中的建议.

参 考 文 献

[1] Bergman Y, Cedar H. DNA methylation dynamics in health and disease. Nat Struct Mol Biol, 2013, **20**(3): 274-281

[2] Tong Z, Han C, Luo W, *et al*. Accumulated hippocampal formaldehyde induces age-dependent memory decline. Age (Dordr), 2012, **35**(3): 583-596

[3] Smith I M, Mydlarz W K, Mithani S K, *et al*. DNA global hypomethylation in squamous cell head and neck cancer associated with smoking, alcohol consumption and stage. Int J Cancer, 2007, **121**(8): 1724-1728

[4] Bird A. The essentials of DNA methylation. Cell, 1992, **70**(1): 5-8

[5] Reik W, Dean W, Walter J. Epigenetic reprogramming in mammalian development. Science, 2001, **293**(5532): 1089-1093

[6] Ooi S K, Bestor T H. The colorful history of active DNA demethylation. Cell, 2008, **133**(7): 1145-1148

[7] Dodge J E, Ramsahoye B H, Wo Z G, *et al*. *De novo* methylation of MMLV provirus in embryonic stem cells: CpG versus non-CpG methylation. Gene, 2002, **289**(1-2): 41-48

[8] Haines T R, Rodenhiser D I, Ainsworth P J. Allele-specific non-CpG methylation of the Nf1 gene during early mouse development. Dev Biol, 2001, **240**(2): 585-598

[9] Crider K S, Yang T P, Berry R J, *et al*. Folate and DNA methylation: a review of molecular mechanisms and the evidence for folate's role. Adv Nutr, 2012, **3**(1): 21-38

[10] Yan F, Fujimori D G. RNA methylation by radical SAM enzymes RlmN and Cfr proceeds via methylene transfer and hydride shift. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, **108**(10): 3930-3934

[11] Law J A, Jacobsen S E. Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals. Nat Rev Genet, 2010, **11**(3): 204-220

[12] Pollema-Mays S L, Centeno M V, Apkarian A V, *et al*. Expression of DNA methyltransferases in adult dorsal root ganglia is cell-type specific and up regulated in a rodent model of neuropathic pain. Front Cell Neurosci, 2014, **8**: 217

[13] Wang K Y, James Shen C K. DNA methyltransferase Dnmt1 and mismatch repair. Oncogene, 2004, **23**(47): 7898-7902

[14] Metivier R, Gallais R, Tiffoche C, *et al*. Cyclical DNA methylation of a transcriptionally active promoter. Nature, 2008, **452** (7183): 45-50

[15] Tong Z, Han C, Luo W, *et al*. Aging-associated excess formaldehyde leads to spatial memory deficits. Sci Rep, 2013, **3**: 1807

[16] Kress C, Thomassin H, Grange T. Local DNA demethylation in vertebrates: how could it be performed and targeted?. FEBS Lett, 2001, **494**(3): 135-140

[17] Venturelli S, Berger A, Weiland T, *et al*. Differential induction of apoptosis and senescence by the DNA methyltransferase inhibitors 5-azacytidine and 5-aza-2'-deoxycytidine in solid tumor cells. Mol Cancer Ther, 2013, **12**(10): 2226-2236

[18] Niehrs C. Active DNA demethylation and DNA repair. Differentiation, 2009, **77**(1): 1-11

[19] Wu S C, Zhang Y. Active DNA demethylation: many roads lead to Rome. Nat Rev Mol Cell Biol, 2010, **11**(9): 607-620

[20] Tahiliani M, Koh K P, Shen Y, *et al*. Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1. Science, 2009, **324**(5929): 930-935

[21] Morgan H D, Dean W, Coker H A, *et al*. Activation-induced cytidine deaminase deaminates 5-methylcytosine in DNA and is expressed in pluripotent tissues: implications for epigenetic reprogramming. J Biol Chem, 2004, **279**(50): 52353-52360

[22] Wu H, Zhang Y. Mechanisms and functions of Tet protein-mediated 5-methylcytosine oxidation. Genes Dev, 2011, **25**(23): 2436-2452

[23] Luka Z, Pakhomova S, Loukachevitch L V, *et al*. Crystal structure of the histone lysine specific demethylase LSD1 complexed with tetrahydrofolate. Protein Sci, 2014, **23**(7): 993-998

[24] Wu Y C, Ling Z Q. The role of TET family proteins and 5-hydroxymethylcytosine in human tumors. Histol Histopathol,

2014, **29**(8): 991-997

[25] Wang X, He C. Dynamic RNA modifications in posttranscriptional regulation. Mol Cell, 2014, **56**(1): 5-12

[26] Meyer K D, Saletore Y, Zumbo P, *et al*. Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons. Cell, 2012, **149**(7): 1635-1646

[27] Sanchez-Pulido L, Andrade-Navarro M A. The FTO (fat mass and obesity associated) gene codes for a novel member of the non-heme dioxygenase superfamily. BMC Biochem, 2007, **8**: 23

[28] Zheng G, Dahl J A, Niu Y, *et al*. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility. Mol Cell, 2012, **49**(1): 18-29

[29] Gerken T, Girard C A, Tung Y C, *et al*. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. Science, 2007, **318**(5855): 1469-1472

[30] Field S F, Howson J M, Walker N M, *et al*. Analysis of the obesity gene FTO in 14,803 type 1 diabetes cases and controls. Diabetologia, 2007, **50**(10): 2218-2220

[31] Frayling T M, Timpson N J, Weedon M N, *et al*. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. Science, 2007, **316**(5826): 889-894

[32] Bressler J, Fornage M, Demerath E W, *et al*. Fat mass and obesity gene and cognitive decline: the atherosclerosis risk in communities study. Neurology, 2012, **80**(1): 92-99

[33] Klungland A, Dahl J A. Dynamic RNA modifications in disease. Curr Opin Genet Dev, 2014, 26C: 47-52.

[34] He R, Lu J, Miao J. Formaldehyde stress. Sci China Life Sci, 2010. 53(12): 1399-404.

[35] 苏 涛, 魏 艳, 赫荣乔. 改良 2, 4- 二硝基苯肼法测定脑内源甲醛. 生物化学与生物物理进展, 2011, **38**(12): 1171-1177
Su T, Wei Y, He R Q. Prog Biochem Biophys, 2011, **38** (12): 1171-1177

[36] Lu J, Miao J, Su T, *et al*. Formaldehyde induces hyperphosphorylation and polymerization of Tau protein both *in vitro* and *in vivo*. Biochim Biophys Acta, 2013, **1830**(8): 4102-4116

[37] Sarsilmaz M, Kaplan S, Songur A, *et al*. Effects of postnatal formaldehyde exposure on pyramidal cell number, volume of cell layer in hippocampus and hemisphere in the rat: a stereological study. Brain Res, 2007, **1145**: 157-167

[38] Ahmed S, Tsukahara S, Tin Tin Win S, *et al*. Effects of low-level formaldehyde exposure on synaptic plasticity-related gene expression in the hippocampus of immunized mice. J Neuroimmunol, 2007, **186**(1-2): 104-111

[39] Kilburn K H, Warshaw R, Thornton J C. Formaldehyde impairs memory, equilibrium, and dexterity in histology technicians: effects which persist for days after exposure. Arch Environ Health, 1987, **42**(2): 117-120

[40] Zhao Y, Zhao B. Oxidative stress and the pathogenesis of Alzheimer's disease. Oxid Med Cell Longev, 2013, **2013**: 316523

[41] Cerda S, Weitzman S A. Influence of oxygen radical injury on DNA methylation. Mutat Res, 1997, **386**(2): 141-152

[42] Tong Z, Zhang J, Luo W, *et al*. Urine formaldehyde level is inversely correlated to mini mental state examination scores in senile dementia. Neurobiol Aging, 2009, **32**(1): 31-41

[43] Wang J, Su T, Liu Y, *et al*. Postoperative cognitive dysfunction is correlated with urine formaldehyde in elderly noncardiac surgical patients. Neurochem Res, 2012, **37**(10): 2125-2134

[44] Tong Z, Han C, Qiang M, *et al*. Age-related formaldehyde interferes with DNA methyltransferase function, causing memory loss in Alzheimer's disease. Neurobiol Aging, 2015, **36**(1): 100-110

[45] Qiang M, Xiao R, Su T, *et al*. A novel mechanism for endogenous formaldehyde elevation in SAMP8 mouse. J Alzheimers Dis, 2014, **40**(4): 1039-1053

[46] Smith T B, De Iuliis G N, Lord T, *et al*. The senescence-accelerated mouse prone 8 as a model for oxidative stress and impaired DNA repair in the male germ line. Reproduction, 2013, **146**(3): 253-262

[47] Wang C M, Tsai S N, Yew T W, *et al*. Identification of histone methylation multiplicities patterns in the brain of senescence-accelerated prone mouse 8. Biogerontology, 2009, **11**(1): 87-102

[48] Chouliaras L, Mastroeni D, Delvaux E, *et al*. Consistent decrease in global DNA methylation and hydroxymethylation in the hippocampus of Alzheimer's disease patients. Neurobiol Aging, 2013, **34**(9): 2091-2099

[49] Hou Q, Jiang H, Zhang X, *et al*. Nitric oxide metabolism controlled by formaldehyde dehydrogenase (fdh, homolog of mammalian GSNOR) plays a crucial role in visual pattern memory in *Drosophila*. Nitric Oxide, 2010, **24**(1): 17-24

[50] Wu K, Ren R, Su W, *et al*. A novel suppressive effect of alcohol dehydrogenase 5 in neuronal differentiation. J Biol Chem, 2014, **289**(29): 20193-20199

[51] Ma H, Yu L, Byra E A, *et al*. Aldehyde dehydrogenase 2 knockout accentuates ethanol-induced cardiac depression: role of protein phosphatases. J Mol Cell Cardiol, 2010, **49**(2): 322-329

[52] Shcherbakova L N, Tel'pukhov V I, Trenin S O, *et al*. Permeability of the blood-brain barrier to intra-arterial formaldehyde. Biull Eksp Biol Med, 1986, **102**(11): 573-575

[53] Staab C A, Alander J, Morgenstern R, *et al*. The Janus face of alcohol dehydrogenase 3. Chem Biol Interact, 2009, **178** (1-3): 29-35

[54] Yang M, Lu J, Miao J, *et al*. Alzheimer's disease and methanol toxicity (part 1): chronic methanol feeding led to memory impairments and tau hyperphosphorylation in mice. J Alzheimers Dis, 2014, **41**(4): 1117-1129

[55] Yang M, Miao J, Rizak J, *et al*. Alzheimer's disease and methanol toxicity (part 2): lessons from four rhesus macaques (Macaca mulatta) chronically fed methanol. J Alzheimers Dis, 2014, **41**(4): 1131-1147

[56] Sun P, Chen J Y, Li J, *et al*. The protective effect of geniposide on human neuroblastoma cells in the presence of formaldehyde. BMC Complement Altern Med, 2013, **13**: 152

[57] Chen J, Sun M, Wang X, *et al*. The herbal compound geniposide rescues formaldehyde-induced apoptosis in N2a neuroblastoma cells. Sci China Life Sci, 2014, **57**(4): 412-421

[58] Li Ting, Qiang Min, Rongqiao H. Chronic dehydration and regularly drinking water to mitigate Age-related cognitive impairment. Acta Neuropharmacologica, 2012, **2**(3): 43-51

[59] Fan G, Beard C, Chen R Z, *et al*. DNA hypomethylation perturbs the function and survival of CNS neurons in postnatal animals. J Neurosci, 2001, **21**(3): 788-797

[60] Rudenko A, Tsai L H. Epigenetic modifications in the nervous system and their impact upon cognitive impairments. Neuropharmacology, 2014, **80**: 70-82

[61] Tong Z Q, Han C S, Miao J Y, *et al*. Excess endogenous formaldehyde induces memory decline. Prog Biochem Biophys, 2011, **38**(6): 575-579

[62] Yu J, Su T, Zhou T, *et al*. Uric formaldehyde levels are negatively correlated with cognitive abilities in healthy older adults. Neurosci Bull, 2014, **30**(2): 172-184

[63] Reik W. Stability and flexibility of epigenetic gene regulation in mammalian development. Nature, 2007, **447**(7143): 425-432

[64] Morgan H D, Santos F, Green K, *et al*. Epigenetic reprogramming in mammals. Hum Mol Genet, 2005, **14** Spec No 1: R47-58

[65] Maunakea A K, Nagarajan R P, Bilenky M, *et al*. Conserved role of intragenic DNA methylation in regulating alternative promoters. Nature, 2010, **466**(7303): 253-257

[66] Basile K J, Johnson M E, Xia Q, *et al*. Genetic susceptibility to type 2 diabetes and obesity: follow-up of findings from genome-wide association studies. Int J Endocrinol, 2014: 769671

[67] Bartlett P F, He R. Introduction to the thematic issue "From brain function to therapy". Sci China Life Sci, 2014, **57**(4): 363-365

[68] Cong L, Jia J. Promoter polymorphisms which regulate ADAM9 transcription are protective against sporadic Alzheimer's disease. Neurobiol Aging, 2011, **32**(1): 54-62

[69] Zhou J. Recent progress in neurodegenerative disorder research in China. Sci China Life Sci, 2010, **53**(3): 348-355

[70] Jia J P, Wang F, Yuan Q, *et al*. Progresses on genetics of predementia phase of Alzheimer's disease. Prog Biochem Biophys, 2012, **39**(8): 698-702

[71] Liu Y, Qiang M, Wei Y, *et al*. A novel molecular mechanism for nitrated {alpha}-synuclein-induced cell death. J Mol Cell Biol, 2011, **3**(4): 239-249

[72] Wei Y, Miao J Y, Liu Y, *et al*. Endogenous and exogenous factors in hyperphosphorylation of Tau in Alzheimer's disease. Prog Biochem Biophys, 2012, **39**(8): 778-784

[73] 王建枝, 田 青. Tau 蛋白过度磷酸化机制及其在阿尔茨海默病神经元变性中的作用. 生物化学与生物物理进展, 2012, **39**(8): 771-777

Wang J Z, Tian Q. Prog Biochem Biophys, 2012, **39**(8): 771-777

[74] Nguyen T H, Qiu X, Sun J, *et al*. Bulk endocytosis at neuronal synapses. Sci China Life Sci, 2014, **57**(4): 378-383

[75] Chen X J, Xu H, Cooper H M, *et al*. Cytoplasmic dynein: a key player in neurodegenerative and neurodevelopmental diseases. Sci China Life Sci, 2014, **57**(4): 372-377

[76] Qiang M, Xu Y, Lu Y, *et al*. Autofluorescence of MDA-modified proteins as an *in vitro* and *in vivo* probe in oxidative stress analysis. Protein Cell, 2014, **5**(6): 484-487

[77] Xu Y J, Qiang M, Zhang J L, *et al*. Reactive carbonyl compounds (RCCs) cause aggregation and dysfunction of fibrinogen. Protein Cell, 2012, **3**(8): 627-640

[78] Zhao B L, Wan L. Metal metabolic homeostasis disruption and early initiation of mechanism for Alzheimer's disease. Prog Biochem Biophys, 2012, **39**(8): 756-763

[79] Taylor C J, He R, Bartlett P F. The role of the N-methyl-D-aspartate receptor in the proliferation of adult hippocampal neural stem and precursor cells. Sci China Life Sci, 2014, **57**(4): 403-411

[80] Yuan T F, Shan C. "Glial inhibition" of memory in Alzheimer's disease. Sci China Life Sci, 2014, **57**(12): 1238-1240

[81] Zhou H, Mangelsdorf M, Liu J, *et al*. RNA-binding proteins in neurological diseases. Sci China Life Sci, 2014, **57**(4): 432-444

[82] Hua Q, He R Q. Effect of phosphorylation and aggregation on tau binding to DNA. Protein Pept Lett, 2002, **9**(4): 349-357

[83] Lyles G A. Mammalian plasma and tissue-bound semicarbazide-sensitive amine oxidases: biochemical, pharmacological and toxicological aspects. Int J Biochem Cell Biol, 1996, **28**(3): 259-274

[84] Kucharczyk N, Yang J T, Wong K K, *et al*. The formaldehyde-donating activity of N5,N10-methylene tetrahydrofolic acid in xenobiotic biotransformation. Xenobiotica, 1984, **14**(8): 667-676

Nucleic Acid Methylation/demethylation, Endogenous Formaldehyde and Age-related Cognitive Impairment*

SU Tao[1,2], SONG Dan[3], LI Ting[1,2], WANG Xing-Hua[4], HE Rong-Qiao[1)**]

([1)] *State Laboratory of Brain and Cognitive Science, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100101, China;

[2)] *The Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100049, China;

[3)] *The Chinese University of Hong Kong Shenzhen Research Institute, Shenzhen* 518057, China;

[4)] *Beijing University of Chinese Medicine, Beijing* 100029, China)

Abstract Methylation/demethylation of DNA, RNA and histone plays important roles in epigenetic functions. Formaldehyde is a significant factor participating in reversible and dynamic methylation of the biomacromolecules. As recently reported, memory formation and cognitive dysfunction are correlated with endogenous formaldehyde metabolism. Imbalance of formaldehyde metabolism affects DNA/RNA methylation and demethylation. Concentrations of endogenous formaldehyde are positively correlated with the severity of cognitive impairment of Alzheimer's patients in clinics. As an epidemiological survey shows, the levels of endogenous formaldehyde in elderly humans are negatively correlated with education years, suggesting that formaldehyde acts like a key factor in human learning and memory. "Live and learn" may mitigate the progression of age-related cognitive impairment resulted from imbalance of formaldehyde metabolism. Further investigation of endogenous formaldehyde involved in epigenetic modificaion and regulation should be carried out to understand the pathomechanism of cognition and cognitive impairment.

Key words DNA methylation, RNA methylation, demethylation, endogenous formaldehyde, cognitive impairment

DOI: 10.16476/j.pibb.2014.0311

* This work was supported by grants from National Basic Research Program of China (2012CB911000), The National Natural Science Foundation of China (31270868) and The Chinese Academy of Sciences Key Deployment Project(20140909).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-64889876, E-mail: herq@sun5.ibp.ac.cn

Received: December 12, 2014 Accepted: December 23, 2014